Untersuchungen zur Einwirkung des Ergotamins auf die hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalins in Abhängigkeit von der Versuchsanordnung

Klaus Kennel

1972

Aus der
Medizinischen Poliklinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

UNTERSUCHUNGEN ZUR EINWIRKUNG DES ERGOTAMINS AUF DIE HYALURONIDASEHEMMENDE WIRKUNG DES ADRENALINS IN ABHÄNGIGKEIT VON DER VERSUCHSANORDNUNG

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
KLAUS KENNEL
aus Frankfurt

München 1972

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent : Professor Dr. W. Seitz

Dekan : Professor Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung : 31. 7. 1972

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Problematik	5
Eigene Versuche	9
Methodik	9
Versuchsreihen und Ergebnisse (Tabellen)	1o
Statistische Auswertung	25
Diskussion und Zusammenfassung	4o
Literaturverzeichnis	42

PROBLEMATIK

Untersuchungen zur Klärung der Rolle der Nebennieren bei der Hemmung der Hyaluronidaseausbreitung durch Substanzen wie Salicylate (1, 2), Butazonderivate (3) und Glucocorticoide (4) haben ergeben, daß zu ihrem Zustandekommen die Anwesenheit der Nebennieren erforderlich ist. Bei adrenalektomierten Versuchstieren findet, wie MATHIES und Mitarbeiter zeigten, eine Hemmung des Farbstoff-Hyaluronidase-Spreadings durch genannte Stoffe nicht statt (1 - 4).

Die Frage, ob die Nebennierenrinde oder das Nebennierenmark den entscheidenden Faktor bei der Hyaluronidasehemmung darstellt, schien zugunsten der Nebennierenrinde entschieden zu sein, als DOMENJOZ (5) den Befund erhob, daß der Ascorbinsäuregehalt der Nebennierenrinde, der nach SAYERS und SAYERS als Ausdruck der Nebennierenrindenaktivität zu werten ist, unter der Einwirkung hyaluronidasehemmender Substanzen einen signifikanten Abfall zeigt. Gegen die Bedeutung der Nebennierenrinde sprachen jedoch Versuchsreihen mit hypophysektomierten Ratten, bei denen nach Applikation derselben Substanzen die Ascorbinsäuredepletion der Nebennierenrinde ausblieb, der hyaluronidasehemmende Effekt aber erhalten blieb. Die über die Hypophyse verlaufende nebennierenrindeaktivierende Wirkung hyaluronidasehemmender Substanzen ist somit für die Hemmung der Hyaluronidaseausbreitung bedeutungslos. Da letztere nur an intakten, nicht aber an adrenalektomierten Tieren zu beobachten ist, muß gefolgert werden, daß sie über eine Stimulierung des Nebennierenmarks zustande kommt. MATHIES (1 - 4, 7) sicherten dieses Ergebnis durch weitere Versuchsreihen, in denen bei adrenalektomierten und

intakten Ratten durch iv.-Applikation der Nebennierenmark-Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin eine Hemmung der Hyaluronidaseausbreitung erzielt werden konnte, die in der gleichen Größenordnung lag, wie die durch Salicylate, Phenylbutazon oder Glucocorticoide verursachte. (Weiterhin wurde gezeigt (8), daß der Hemmeffekt der Katecholamine sowohl wie der übrigen untersuchten Substanzen bei vorheriger Gabe des Adrenalyticums Ergotamintartrat nicht zustandekommt (8). Da die angewandten Versuchsanordnungen Angaben über den zeitlichen Verlauf der zu untersuchenden Vorgänge erlaubten, konnte gefunden werden, daß nicht die Erhöhung des normalen, sondern das Absinken eines erhöhten Katecholaminspiegels die Hyaluronidasehemmung bewirkt. Nach einmaliger Adrenalinapplikation etwa trat bei adrenalektomierten Ratten der Hemmeffekt eindeutig später auf als die Pupillenerweiterung (9). In dieselbe Richtung wies die Tatsache, daß über zwei Stunden laufende Adrenalin-Dauerinfusionen bei adrenalektomierten Tieren erst nach ihrem Absetzen zu einer Hyaluronidasehemmung führen (1o). Bei intakten Tieren wurde der Effekt allerdings schon während der Dauerinfusion beobachtet. Diese letztere Erscheinung läßt sich deuten, wenn man einen Befund von MALORNY (11) heranzieht. Bei der Untersuchung der blutdrucksteigernden Wirkung des Adrenalins bei der Katze, beobachtete er bei kontinuierlicher Adrenalin-Zufuhr das periodische Auftreten zusätzlicher Blutdruck-Steigerungen. MALORNY vermutet, daß die laufende Adrenalinzufuhr zusätzliche Adrenalinausschüttungen aus dem Nebennierenmark bewirkt.

Die Blockierung des hyaluronidasehemmenden Effektes des Adrenalins durch Ergotamin wird von VOGEL (12), UEBEL und MAREK bestritten. Diese Autoren stützen sich jedoch auf Untersuchungen, denen eine Versuchsanordnung zu Grunde liegt, die sich in mehrfacher Hinsicht von der von MATHIES und Mitarbeiter verwandten unterscheidet. So benutzten sie statt der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel das Hyaluronidase-Ödem der Rattenpfote. Diese Versuchsanordnung ermöglicht lediglich die Erfassung des Gesamtablaufs der Reaktion, während die Methode der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel zu jedem beliebigen Zeitpunkt des Versuchs Einblick in den aktuellen Stand der Reaktionsvorgänge gewährt. Auch der Applikationsmodus der zu untersuchenden Substanzen war ein anderer : Adrenalin wurde in 15-minütigen Abständen subcutan injiziert, Ergotamin einmalig 1o Minuten nach der ersten Adrenalinabgabe.

TSACHIOTIS (13) hat bereits Untersuchungen darüber angestellt, ob die subcutane 1/4-stündliche Gabe wiederholter Adrenalindosen als geeignetes Versuchsmodell zur Erfassung der hyaluronidasehemmenden Wirkung des Adrenalins anzusehen ist. Hierbei wurde jedoch nicht die den Arbeiten von VOGEL (12) und Mitarbeitern zugrundeliegende Methodik des Hyaluronidase-Pfotenödems der Ratte, sondern die geeigneter erscheinende Methodik des Farbstoff-Hyaluronidase-Spreadings angewandt. Er kam zu dem Schluß, daß zumindest zu dem Zeitpunkt 45 Minuten nach Versuchsbeginn eine auf jede Adrenalin-Injektion erfolgende Hyaluronidasehemmung signifikant ist. Nach diesem Zeitpunkt scheint eine Änderung des Kurvenverlaufs einzutreten, die durch eine erhebliche Streuung innerhalb der Versuchstiere

charakterisiert ist und durch nicht näher bekannte Regulationen bedingt sein dürfte.

Es war nun die Frage zu klären, ob der Zeitpunkt der Ergotaminabgabe 1o Minuten nach der 1. Adrenalin-Applikation eine Blockierung des hyaluronidasehemmenden Effektes des Adrenalins überhaupt zu bewirken vermag. In Versuchen von MATHIES, GLÜCK, POULANTZAS und SCHMIDT (8) wurde bei einmaliger intravenöser Adrenalin-Applikation Ergotamin vor dem Adrenalin appliziert. Zumal in der Versuchsanordnung des Hyaluronidase-Pfotenödems erschien es durchaus möglich, daß die einmal in Gang gesetzte Adrenalinwirkung durch nachfolgende Ergotaminapplikation nicht mehr rückgängig gemacht werden konnte. Es waren daher Untersuchungen mit der gleichen Versuchsanordnung, wie von TSACHIOTIS (13) angewandt, mit wiederholten Adrenalin-Applikationen durchzuführen, wobei der zeitliche Abstand der Ergotamingabe von der ersten Adrenalin-Applikation zu variieren war und vor allem Ergotamin nicht nur nach, sondern auch zu verschiedenen Zeiten vor der 1. Adrenalingabe injiziert werden mußte.

EIGENE VERSUCHE

METHODIK

Für die Versuche wurden weiße Ratten im Gewicht von 16o - 22o g verwendet. Die Hyaluronidaseaktivität wurde an der Ausbreitung einer Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel vor und nach subcutanen Injektionen von Adrenalin in der Dosis 1 γ pro 1oo g Tier im Abstand von 15 Minuten, bzw. vor und nach der subcutanen Injektion von Ergotamintartrat in der Dosis von o,2 mg pro 1oo g Tier (3o Minuten und 2o Minuten vor und 1o Minuten nach der 1. Adrenalin-Applikation) ermittelt. Die Bauchhaut der Ratten wurde vor dem Versuch mit Pilca enthaart. Die reine Farbstoffquaddel wurde mit o,1 ccm einer o,6%igen Evansblau-Lösung streng intracutan gesetzt. Zur Herstellung der Farbstoff-Hyaluronidase-Lösung wurden in 2 ccm der oben angegebenen o,6%igen Evansblau-Lösung 15o IE Hyaluronidase gelöst, so daß bei der intracutanen Injektion von o,1 ccm 7,5 IE Hyaluronidase zur Wirkung kamen. Ausgewertet wurde die 1o Minuten nach Injektion erreichte Ausbreitung der Farbstofflecken, da nach MADIMAVEITIA[14] in dieser Zeit das Spreading ein reiner Hyaluronidase-Effekt ist. Das Ausbreitungsfeld wurde durch Übertragung der Konturen auf einen Celluloid-Streifen und anschließende planimetrische Auswertung bestimmt. Die Rattenbauchhaut wurde in 6 Felder aufgeteilt, wobei jedes Feld einer Applikationsposition entsprach. Um lokalisationsbedingte Unterschiede der Farbstoffausbreitung möglichst auszuschalten, wurden bei jedem der Versuchstiere die Quaddeltypen in verschiedenen Positionen gesetzt. Die Quaddel-Lokalisationen sind für die einzelnen Versuchsreihen angegeben. Hierbei bedeutet 1 und 2 die Lokalisation unterhalb des rechten bzw. linken Rippenbogens, 3 und 4 auf der rechten bzw. linken Mitte, 5 und 6 oberhalb der rechten bzw. linken Leistenbeuge des Tieres.

Naturgemäß zeigt die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel eine weitaus raschere Ausbreitung als die reine Farbstoff-Quaddel. Dagegen weist die Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel eine gewisse Hemmung der Ausbreitung auf, wenn eine hyaluronidasehemmende Substanz appliziert wird. Bei Gabe einer weiteren Substanz, die geeignet ist, den hyaluronidasehemmenden Effekt zu blockieren, ist eine geringere oder keine Hemmung anzutreffen. Die Versuche wurden in Narkose mit 2o mg Evipan pro 1oo g Tier durchgeführt. Bei mehrstündiger Versuchsdauer erwies sich die Kombination von 2o mg Evipan-Natrium und 3,8 mg Luminal-Natrium pro 1oo g Tier als zweckmäßig. Barbiturate beeinflussen die Aktivität der Hyaluronidase nicht.

VERSUCHSREIHEN UND ERGEBNISSE

In den Versuchsreihen I bis XII wurde je eine Farbstoff-Quaddel (FQ) und eine Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel (FHQ) intracutan gesetzt (Leer-Wert). Nach Abnahme der Konturen der jeweiligen Ausbreitung wurde in den Versuchsreihen I bis VI Adrenalin im Abstand von 15 Minuten und Ergotamin einmalig 1o Minuten nach der ersten Adrenalininjektion subcutan appliziert. Weitere Farbstoff-Quaddeln und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln wurden jeweils zu folgenden Zeitpunkten nach der ersten Adrenalinapplikation gesetzt:

Versuchsreihe I nach 7,5 und nach 3o Minuten (Tabelle 1)
Versuchsreihe II nach 15 und nach 37,5 Minuten (Tabelle 2)
Versuchsreihe III nach 22,5 und nach 45 Minuten (Tabelle 3)

Versuchsreihe IV nach 52,5 und nach 75 Minuten
(Tabelle 4)
Versuchsreihe V nach 6o und nach 82,5 Minuten
(Tabelle 5)
Versuchsreihe VI nach 67,5 und nach 9o Minuten
(Tabelle 6)

Die Quaddelanordnung geschah nach dem in den Tabellen 1 bis 6 angegebenen Schema.

In den Versuchsreihen VII bis IX wurde nach Bestimmung des Leer-Wertes Adrenalin im Abstand von 15 Minuten und Ergotamin einmalig 2o Minuten vor der ersten Adrenalininjektion subcutan appliziert. Weitere Farbstoff-Quaddeln und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln wurden jeweils zu folgenden Zeitpunkten nach der ersten Adrenalinapplikation gesetzt:

Versuchsreihe VII nach 7,5 und nach 3o Minuten
(Tabelle 7)
Versuchsreihe VIII nach 15 und nach 37,5 Minuten
(Tabelle 8)
Versuchsreihe IX nach 22,5 und nach 45 Minuten
(Tabelle 9)

Die Quaddelanordnung geschah nach dem in den Tabellen 7 bis 9 angegebenen Schema.

In den Versuchsreihen X bis XII wurde nach Bestimmung des Leer-Wertes Adrenalin im Abstand von 15 Minuten und Ergotamin einmalig 3o Minuten vor der ersten

Adrenalininjektion subcutan appliziert. Weitere Farbstoff-Quaddeln und Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln wurden jeweils zu folgenden Zeitpunkten nach der ersten Adrenalinapplikation gesetzt:

Versuchsreihe X nach 7,5 und nach 3o Minuten (Tabelle 1o)
Versuchsreihe XI nach 15 und nach 37,5 Minuten (Tabelle 11)
Versuchsreihe XII nach 22,5 und nach 45 Minuten (Tabelle 12)

Die Quaddelanordnung geschah nach dem in den Tabellen 1o bis 12 angegebenen Schema.

VERSUCHSREIHE I

Adrenalin im Abstand von 15 Minuten, Ergotamin 1o Minuten nach der ersten Adrenalininjektion.

Tier Nr.	Leerversuch		7,5' nach der 1. Adrenalin-Gabe		3o' nach der 1. Adrenalin-Gabe	
	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm
1	o82	2o5	119	121	o61	o7o
2	o93	143	o76	129	o82	195
3	o92	132	o75	12o	o75	164
4	o83	158	o69	161	o71	114
5	o75	189	o79	195	o94	144
6	1oo	153	o79	176	o9o	135

Lokalisation

1	5	3	1	4	6	2
2	6	4	2	5	1	3
3	1	5	3	6	2	4
4	2	6	4	1	3	5
5	3	1	5	2	4	6
6	4	2	6	3	5	1

TABELLE 1

VERSUCHSREIHE II

Adrenalin im Abstand von 15 Minuten, Ergotamin 1o Minuten nach der ersten Adrenalininjektion.

Tier Nr.	Leerversuch		15' nach der 1. Adrenalin-Gabe		37,5' nach der 1. Adrenalin-Gabe	
	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm
1	o91	213	o95	179	o69	151
2	1o1	214	19o	14o	17o	o75
3	1oo	2o8	o71	o55	o61	15o
4	1o5	22o	o45	13o	o55	13o
5	o81	19o	o75	124	o8o	195
6	o93	19o	o75	171	o79	165
	Lokalisation					
1	3	2	1	4	5	6
2	4	3	2	5	6	1
3	5	4	3	6	1	2
4	6	5	4	1	2	3
5	1	6	5	2	3	4
6	2	1	6	3	4	5

TABELLE 2

VERSUCHSREIHE III

Adrenalin im Abstand von 15 Minuten, Ergotamin 1o Minuten nach der ersten Adrenalininjektion.

Tier Nr.	Leerversuch		22,5' nach der 1. Adrenalin-Gabe		45' nach der 1. Adrenalin-Gabe	
	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm
1	114	24o	o67	18o	o61	14o
2	123	224	1o5	2o2	o61	125
3	o64	189	o85	15o	o61	16o
4	1oo	149	12o	o9o	o6o	14o
5	o59	13o	o51	142	o75	16o
6	o6o	119	o6o	181	o5o	221
	Lokalisation					
1	6	1	2	3	4	5
2	1	2	3	4	5	6
3	2	3	4	5	6	1
4	3	4	5	6	1	2
5	4	5	6	1	2	3
6	5	6	1	2	3	4

TABELLE 3

VERSUCHSREIHE IV

Adrenalin im Abstand von 15 Minuten, Ergotamin 1o Minuten nach der ersten Adrenalininjektion.

Tier Nr.	Leerversuch		52,5' nach der 1. Adrenalin-Gabe		75' nach der 1. Adrenalin-Gabe	
	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm
1	1o5	3o5	o71	19o	o76	182
2	o71	242	o61	145	o69	215
3	1o5	21o	o7o	215	o85	191
4	134	172	o6o	21o	o65	195
5	1o7	225	o74	198	o92	2o5
6	118	2oo	o69	212	o81	2o9
	Lokalisation					
1	5	1	4	3	2	6
2	6	2	5	4	3	1
3	1	3	6	5	4	2
4	2	4	1	6	5	3
5	3	5	2	1	6	4
6	4	6	3	2	1	5

TABELLE 4

VERSUCHSREIHE V

Adrenalin im Abstand von 15 Minuten, Ergotamin 1o Minuten nach der ersten Adrenalininjektion.

Tier Nr.	Leerversuch		6o' nach der 1. Adrenalin-Gabe		82,5' nach der 1. Adrenalin-Gabe	
	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm
1	1oo	2o9	112	221	o89	219
2	125	26o	o85	2o2	11o	215
3	127	222	123	231	1oo	184
4	o9o	26o	o9o	2o1	12o	22o
5	122	216	o92	2o5	o8o	181
6	o9o	232	o86	2oo	11o	222
Lokalisation						
1	4	1	6	2	3	5
2	5	2	1	3	4	6
3	6	3	2	4	5	1
4	1	4	3	5	6	2
5	2	5	4	6	1	3
6	3	6	5	1	2	4

TABELLE 5

VERSUCHSREIHE VI

Adrenalin im Abstand von 15 Minuten, Ergotamin 1o Minuten nach der ersten Adrenalininjektion.

Tier Nr.	Leerversuch		67,5' nach der 1. Adrenalin-Gabe		9o' nach der 1. Adrenalin-Gabe	
	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm
1	127	2o4	11o	231	o95	185
2	o85	222	o92	254	11o	2oo
3	13o	221	1o5	165	115	18o
4	11o	18o	1oo	2o1	1oo	175
5	129	216	121	191	o95	18o
6	11o	231	1o7	22o	11o	172
			Lokalisation			
1	2	5	6	1	3	4
2	3	6	1	2	4	5
3	4	1	2	3	5	6
4	5	2	3	4	6	1
5	6	3	4	5	1	2
6	1	4	5	6	2	3

TABELLE 6

VERSUCHSREIHE VII

Adrenalin im Abstand von 15 Minuten, Ergotamin 2o Minuten vor der ersten Adrenalininjektion.

Tier Nr.	Leerversuch		7,5' vor der 1. Adrenalin-Gabe		3o' vor der 1. Adrenalin-Gabe	
	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm
1	o6o	179	o6o	17o	o85	15o
2	o65	225	o55	135	o69	14o
3	o74	2o5	o8o	175	o71	151
4	o76	211	o51	181	o51	2o1
5	o7o	181	o65	17o	o84	219
6	o99	215	o75	17o	o7o	2o1
			Lokalisation			
1	6	5	1	4	3	2
2	1	6	2	5	4	3
3	2	1	3	6	5	4
4	3	2	4	1	6	5
5	4	3	5	2	1	6
6	5	4	6	3	2	1

TABELLE 7

VERSUCHSREIHE VIII

Adrenalin im Abstand von 15 Minuten, Ergotamin 2o Minuten vor der ersten Adrenalininjektion.

Tier Nr.	Leerversuch		15' vor der 1. Adrenalin-Gabe		37,5' vor der 1. Adrenalin-Gabe	
	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm
1	o82	245	o7o	215	1oo	2oo
2	o71	191	o7o	151	o85	151
3	o65	224	o7o	2o5	o51	211
4	o5o	175	o65	155	o75	191
5	o7o	231	o61	183	o62	211
6	o71	183	o55	17o	o6o	145
	Lokalisation					
1	2	6	5	1	3	4
2	3	1	6	2	4	5
3	4	2	1	3	5	6
4	5	3	2	4	6	1
5	6	4	3	5	1	2
6	1	5	4	6	2	3

TABELLE 8

VERSUCHSREIHE IX

Adrenalin im Abstand von 15 Minuten, Ergotamin 2o Minuten vor der ersten Adrenalininjektion.

Tier Nr.	Leerversuch		22,5' vor der 1. Adrenalin-Gabe		45' vor der 1. Adrenalin-Gabe	
	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm
1	o71	169	o69	174	o52	172
2	o55	2o5	o61	171	o71	177
3	o55	161	o51	172	o61	181
4	o71	167	o95	18o	o55	18o
5	o9o	235	o78	154	o65	191
6	o8o	211	o75	167	o71	182
	Lokalisation					
1	3	1	4	5	6	2
2	4	2	5	6	1	3
3	5	3	6	1	2	4
4	6	4	1	2	3	5
5	1	5	2	3	4	6
6	2	6	3	4	5	1

TABELLE 9

VERSUCHSREIHE X

Adrenalin im Abstand von 15 Minuten, Ergotamin 3o Minuten vor der ersten Adrenalininjektion.

Tier Nr.	Leerversuch		7,5' vor der 1. Adrenalin-Gabe		3o' vor der 1. Adrenalin-Gabe	
	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm
1	o71	171	o45	152	o45	124
2	o53	215	o65	17o	o7o	145
3	o85	2oo	o66	152	o75	132
4	o52	182	o51	18o	o68	175
5	o82	176	o69	193	o7o	111
6	o69	175	o65	175	o61	149

Lokalisation

1	4	5	6	3	2	1
2	5	6	1	4	3	2
3	6	1	2	5	4	3
4	1	2	3	6	5	4
5	2	3	4	1	6	5
6	3	4	5	2	1	6

TABELLE 1o

VERSUCHSREIHE XI

Adrenalin im Abstand von 15 Minuten, Ergotamin 3o Minuten vor der ersten Adrenalininjektion.

Tier Nr.	Leerversuch		15' vor der 1. Adrenalin-Gabe		37,5' vor der 1. Adrenalin-Gabe	
	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm
1	o85	161	o61	161	o85	152
2	1oo	2o5	o95	185	o94	185
3	123	2o5	o99	186	121	2o1
4	119	211	1o2	16o	121	185
5	135	2o2	o84	18o	1o1	186
6	1o5	215	o76	211	1o1	231

Lokalisation

1	1	5	4	3	2	6
2	2	6	5	4	3	1
3	3	1	6	5	4	2
4	4	2	1	6	5	3
5	5	3	2	1	6	4
6	6	4	3	2	1	5

TABELLE 11

VERSUCHSREIHE XII

Adrenalin im Abstand von 15 Minuten, Ergotamin 3o Minuten vor der ersten Adrenalininjektion.

Tier Nr.	Leerversuch		22,5' vor der 1. Adrenalin-Gabe		45' vor der 1. Adrenalin-Gabe	
	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm	FQ_2 mm	FHQ_2 mm
1	125	21o	1o5	185	o93	179
2	1o5	2o1	o65	165	o75	181
3	o91	141	o7o	191	o8o	155
4	o95	215	o81	169	o85	2oo
5	115	235	1oo	12o	o91	18o
6	1o3	245	o8o	175	o91	1o3
			Lokalisation			
1	6	5	2	4	3	1
2	1	6	3	5	4	2
3	2	1	4	6	5	3
4	3	2	5	1	6	4
5	4	3	6	2	1	5
6	5	4	1	3	2	6

TABELLE 12

STATISTISCHE AUSWERTUNG DER VERSUCHSERGEBNISSE

Durch Versuche mit Farbstoff- und Farbstoffhyaluronidasequaddeln in den Anordnungen lateinischer Quadrate ist die medizinische Fragestellung nach den Veränderungen der Hyaluronidaseaktivität zu erfassen. Der Einfluß von Adrenalin drückt sich dabei meßtechnisch als Veränderung beobachteter Flächeninhalte gegenüber Vor- und Kontrollwerten der Quaddelausbreitung aus.

Mathematisch-statistisch sind diese quantitativen Veränderungen zahlenmäßig zu erfassen. Die Auswertung sichert nach wahrscheinlichkeitstheoretischen Überlegungen anhand von mehrfachen Beobachtungen den Verlauf dieser Veränderungen.

Die Versuchsreihen I bis XII sollen den Einfluß einmalig injizierten Ergotamins auf die allenfalls hemmende Wirkung von Adrenalin aufzeigen.

Die vorliegenden Meßreihen werden zunächst durch die statistischen Meßzahlen Mittelwert $\bar{x}$ und mittlere quadratische Abweichung (m. q. A.) $s_{\bar{x}}$ beschrieben. Für die Prüfung von Unterschieden sind die Einflüsse versuchsbedingter Variabilitäten zu berücksichtigen. In einer zweifachen Varianzanalyse läßt sich die Gesamtvarianz nach drei Komponenten hin trennen und damit unter Berücksichtigung des Einflusses der Variabilität zwischen den Tieren und der Komponente zwischen den Stufen eine Restvarianz finden, die als methodische Variabilität bezeichnet werden kann. Aus ihrem Verhältnis zur Komponente zwischen den Beobachtungsstufen ist mittels des Quotiententests ($F_{emp.}$) nach Fisher auf

tatsächlich bestehende Unterschiede zwischen den Beobachtungen verschiedener Zeiten zu schliessen, soweit die zugelassene Irrtumswahrscheinlichkeit p = o.o5 in der zugehörigen F-Prüfverteilung nicht überschritten wird.

Als Ergebnisse der mathematisch-statistischen Analyse sind die Freiheitsgrade FG der Varianzkomponente, Summenabstandsquadrate SAQ und Mittlere Abstandsquadrate MAQ, die Varianzquotienten $F_{emp.}$ zwischen jeweiliger Komponente und Restvarianz, sowie die Irrtumswahrscheinlichkeit p angegeben, die ein Maß der Sicherheit für die getroffene Entscheidung (Differenz der Mittelwerte $x_d \neq 0$) darstellt.

Die Ausbreitung der Quaddeln in % bezieht sich auf die beobachteten zugehörigen Kontrollwerte (1oo %).

Die folgenden Tabellen I bis III beschreiben Mittelwerte $\bar{x}$ und mittlere quadratische Abweichungen (m. q. A.) $s_{\bar{x}}$, die Meßergebnisse der experimentellen Untersuchungen sind. Die beobachtete Farbstoffausbreitung bezieht sich auf den jeweiligen Kontrollwert K in %.

Versuchsreihe	Anz. der Beob.	Zeit t nach 1. Injekt. (min)	Farbstoff-Quaddeln Mittel m.q.A. $\bar{x}$	$\pm s_{\bar{x}}$	Ausbreitg./Hemmung ± (%) stat. gesich.	Farbstoffhyal.-Quaddeln Mittel m.q.A. $\bar{x}$	$\pm s_{\bar{x}}$	Ausbreitg./Hemmung ± (%) stat. gesich.
TABELLE I								
Kontrollwerte K und Meßwerte der Farbstoffausbreitung bei Ergotaminapplikation 1o min nach erster Adrenalininjektion.								
I	6	K	87	3,7		163	11,4	
	.	7,5	83	7,3	-5	15o	12,9	-8
	.	3o	79	5,o	-9	137	17,4	-16
II	6	K	95	2,6		2o6	5,2	
	.	15	92	2o,7	-3	133	18,1	-35
	.	37,5	86	17,3	-9	144	16,4	-3o
III	6	K	87	11,8		175	2o,5	
	.	22,5	81	11,o	-7	157	16,2	-1o
	.	45	61	3,2	-3o	158	13,7	-1o
IV	6	K	1o7	8,4		226	18,5	
	.	52,5	67	2,3	-37	195	1o,7	-14
	.	75	78	4,1	-27	199	5,o	-12
V	6	K	1o9	7,1		232	9,o	
	.	6o	98	6,4	-1o	21o	5,2	-9
	.	82,5	1o1	6,o	-7	2o7	7,7	-11
VI	6	K	115	7,1		212	7,4	
	.	67,5	1o6	3,9	-8	21o	12,8	-1
	.	9o	1o4	3,5	-9	183	4,o	-14

Versuchsreihe	Anz. der Beob.	Zeit t nach 1. Injekt. (min)	Farbstoff-Quaddeln Mittel m.q.A. $\bar{x}$	$\pm s_{\bar{x}}$	Ausbreitg./Hemmung ± (%) stat. gesich.	Farbstoffhyal.-Quaddeln Mittel m.q.A. $\bar{x}$	$\pm s_{\bar{x}}$	Ausbreitg./Hemmung ± (%) stat. gesich.
TABELLE II								
Kontrollwerte K und Meßwerte der Farbstoffausbreitung bei Ergotaminapplikation 2o min. vor erster Adrenalininjektion.								
VII	6	K	74	5,5		2o3	7,6	
	.	7,5'	64	4,6	-13	167	6,6	-18
	.	3o'	72	5,o	-2	177	13,7	-13
VIII	6	K	68	4,2		2o8	11,7	
	.	15'	66	2,5	-3	18o	1o,6	-13
	.	37,5'	72	7,4	+5	185	12,o	-11
IX	6	K	7o	5,6		191	12,2	
	.	22,5'	71	6,1	+1	17o	3,5	-11
	.	45'	62	3,2	-11	18o	2,5	-6

Versuchsreihe	Anz. der Beob.	Zeit t nach 1. Injekt. (min)	Farbstoff-Quaddeln Mittel $\bar{x}$	m.q.A. $\pm s_{\bar{x}}$	Ausbreitg./ Hemmung ± (%) stat. gesich.	Farbstoffhyal.-Quaddeln Mittel $\bar{x}$	m.q.A. $\pm s_{\bar{x}}$	Ausbreitg/ Hemmung ± (%) stat. gesich.
TABELLE III								
Kontrollwerte K und Meßwerte der Farbstoffausbreitung bei Ergotaminapplikation 3o min vor erster Adrenalininjektion.								
X	6	K	69	5,6		186	7,o	
	.	7,5'	6o	3,9	-13	17o	6,5	-9
	.	3o'	65	4,3	-6	139	9,1	-25
XI	6	K	111	7,3		2oo	8,o	
	.	15'	86	6,4	-22	2oo	8,o	o
	.	37,5'	1o4	5,9	-6	19o	1o,5	-5
XII	6	K	1o6	5,1		2o8	14,9	
	.	22,5'	83	6,5	-21	167	1o,3	-2o
	.	45'	86	2,9	-19	166	13,9	-2o

Mathematisch-statistische Analyse und Interpretation des Testergebnisses

Versuchsreihe I (a - f) bis VI

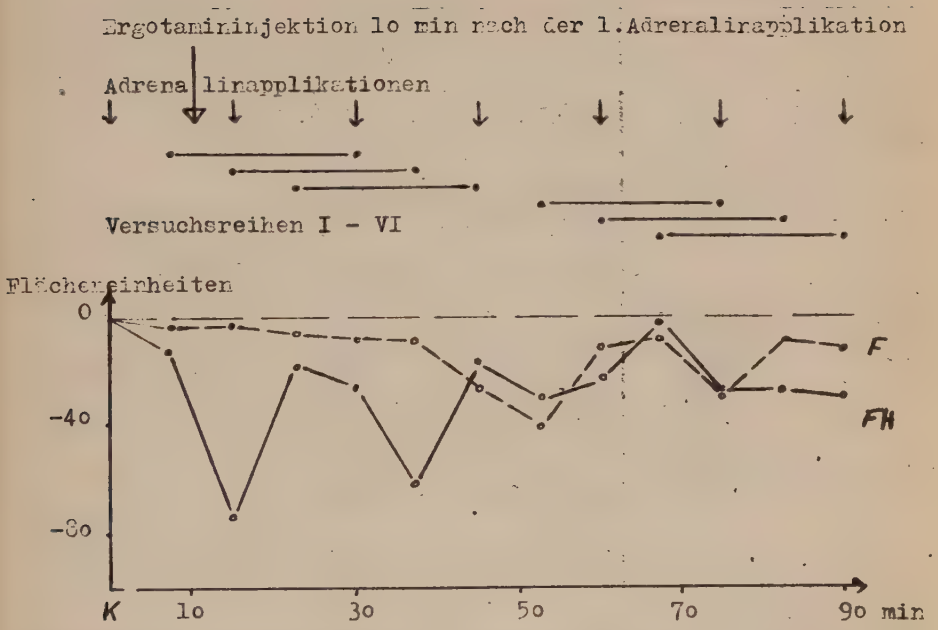
Bei gleicher Anordnung der Versuche weisen die Beobachtungen des Einflusses einer einmaligen Ergotaminapplikation 1o Minuten nach erster Adrenalininjektion darauf hin, daß eine Hemmung der Hyaluronidase nach etwa 4o bis 5o min (in den beobachteten Fällen für etwa 1o bis 3o min) aufgehoben wird. Rund 6o min nach der Ergotaminapplikation setzt sich der Hemmeffekt unter dem Einfluß der regelmäßigen Adrenalininjektionen sicher wieder durch.

An den bloßen Farbstoffquaddeln läßt sich ca. 3o min nach Verabreichung des Ergotamins eine flächenhafte Verkleinerung von 3o bis 4o % sichern ($p < o,o1$), die nach weiteren rund 4o min wieder verschwindet.

Insgesamt scheint sich die Einwirkung des Ergotamins auf die Veränderung der bloßen Farbstoff- wie auch der Farbstoffhyaluronidasequaddeln zeitlich auf rund eine Stunde bis 7o min zu beschränken (Darstellung 1).

Varianzanalysen :

(Tabelle IV)



Darstellung 1: Veränderungen von Farbstoffquaddeln F und Farbstoffhyaluronidasequaddeln FH durch Adrenalin unter Ergotamin bei Ratten.

TABELLE IV

Versuchsreihe: Beobachtungszeiten (min)	Varianzkomponente	FG	Farbstoffquaddeln SAQ	MAQ	F_{emp}	P
I K- 7,5-30'	gesamt	17	3035			
	zw. Tieren	3	433	86,6	0,36	> 0,05
	zw. Stufen	2	225	112,5	0,47	> 0,05
	Rest	10	2377	237,7		
II K-15-37,5'	gesamt	17	22351			
	zw. Tieren	5	14672	2934,4	3,96	< 0,05
	zw. Stufen	2	279	139,5	0,18	> 0,05
	Rest	10	7400	740,0		
III K-22,5-45'	gesamt	17	10343			
	zw. Tieren	5	4049	809,8	1,95	> 0,05
	zw. Stufen	2	2141	1070,5	2,58	> 0,05
	Rest	10	4153	415,3		
IV K-52,5-75'	gesamt	17	7755			
	zw. Tieren	5	1137	227,4	1.34	> 0,05
	zw. Stufen	2	4932	2466,0	14.7	< 0,001
	Rest	10	1886	168,6		
V K-60-82,5'	gesamt	17	4273			
	zw. Tieren	5	900	180,0	0,60	> 0,05
	zw. Stufen	2	379	189,5	0,63	> 0,05
	Rest	10	2994	299,4		
VI K-67,5-90'	gesamt	17	2783			
	zw. Tieren	5	916	183,2	1.26	> 0,05
	zw. Stufen	2	422	211,0	1.46	> 0,05
	Rest	10	1445	144,5		

Tabelle IV (Fortsetzung)

Versuchsreihe: Beobachtungszeiten (min)		Varianzkomponente	FG	SAQ	MAQ	F_{emp}	P
				Farbstoffhyaluronidasequaddeln			
I	K- 7,5-30'	gesamt	17	20174			
		zw. Tieren	3	3643	728,6	0,50	> 0,05
		zw. Stufen	2	2081	1040,5	0,72	> 0,05
		Rest	10	14450	1445,0		
II	K-15-37,5'	gesamt	17	37066			
		zw. Tieren	5	4650	930,0		> 0,05
		zw. Stufen	2	18375	9187,5	6,53	> 0,05
		Rest	10	14041	1404,1		
III	K-22,5-45'	gesamt	17	27501			
		zw. Tieren	5	8449	1689,8	0,94	> 0,05
		zw. Stufen	2	1237	618,5	0,34	> 0,05
		Rest	10	17815	1781,5		
IV	K-52,5-75'	gesamt	17	17844			
		zw. Tieren	5	1834	366,8	0,28	> 0,05
		zw. Stufen	2	3291	1645,5	1,29	> 0,05
		Rest	10	12719	1271,9		
V	K-60-82,5'	gesamt	17	7564			
		zw. Tieren	5	1393	278,6	0,75	> 0,05
		zw. Stufen	2	2480	1240,0	3,36	> 0,05
		Rest	10	3691	369,1		
VI	K-67,5-90'	gesamt	17	10308			
		zw. Tieren	5	3218	643,6	1,66	> 0,05
		zw. Stufen	2	3223	1611,5	4,17	0,05
		Rest	10	3867	386,7		

Versuchsreihe VII (a - c) bis IX

Bei Verabreichung von Ergotamin 2o min vor der ersten Adrenalininjektion lassen die beobachteten Meßwerte für keine der beiden Quaddeltypen einen Schluß auf eine eindeutige und sichere Hemmwirkung zu ($p < 0{,}05$). Daraus ist zu folgern, daß sich die Einflüsse des Adrenalin und des Ergotamin unter den gegebenen Versuchsbedingungen während der beobachteten Zeit von 5o min, abgesehen von zufälligen Schwankungen, weitgehend aufheben. (Darstellung 2).

Varianzanalysen:

(Tabelle V)

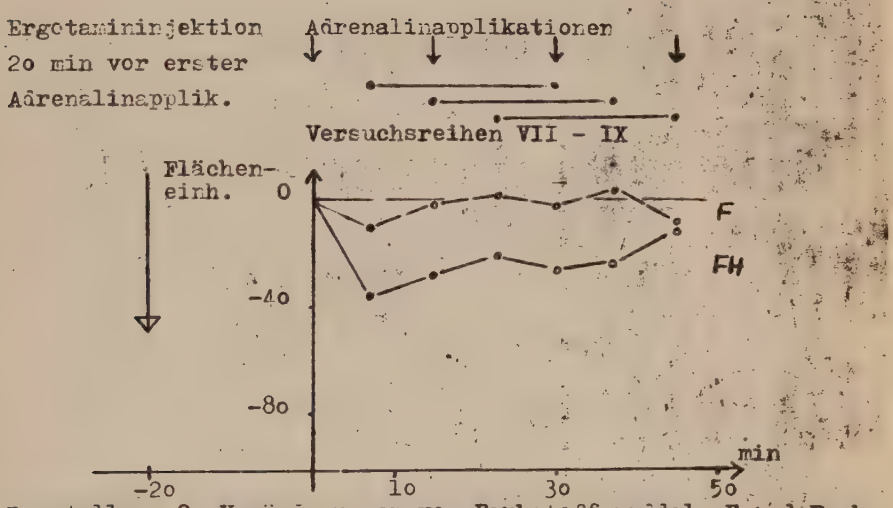
Versuchsreihe X (a - c) bis XII

Für die beiden Quaddeltypen sind bei Verabreichung von Ergotamin 3o min vor der ersten Adrenalininjektion unterschiedliche Veränderungen eines Hemmeffektes festzustellen.

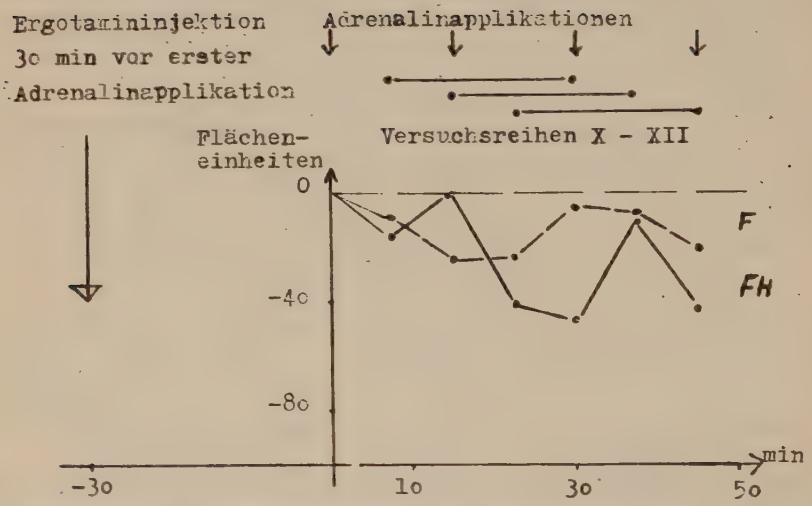
Während die bloßen Farbstoffquaddeln nahezu während der ganzen Beobachtungszeit eine deutliche Verkleinerung aufweisen, wobei sich die einzelnen Versuchstiere sehr unterschiedlich verhalten, ist für die Farbstoffquaddeln ein jeweils ca. 15 min andauerndes Auftreten und Verschwinden des Hemmeffektes festzustellen, dem jedoch nach statistischen Gesichtspunkten keine eindeutige Tendenz beizumessen ist. (Darstellung 3)

Varianzanalysen:

(Tabelle V)



Darstellung 2: Veränderungen von Farbstoffquaddeln F und Farbstoffhyaluronidasequaddeln FH durch Adrenalin unter Ergotamin bei Ratten.



Darstellung 3: Veränderungen von Farbstoffquaddeln F und Farbstoffhyaluronidasequaddeln FH durch Adrenalin unter Ergotamin bei Ratten.

TABELLE V

Versuchsreihe: Beobachtungszeiten (min)	Varianzkomponente	Farbstoffquaddeln FG	SAQ	MAQ	F_{emp}	P
VII K-7,5-30'	gesamt	17	2638			
	zw. Tieren	5	984	196,8	1,46	> 0,05
	zw. Stufen	2	305	152,5	1,13	> 0,05
	Rest	10	1349	134,9		
VIII K-15-37,5'	gesamt	17	2524			
	zw. Tieren	5	1218	243,6	2,07	> 0,05
	zw. Stufen	2	129	64,5	0,54	> 0,05
	Rest	10	1177	117,7		
IX K-22,5-45'	gesamt	17	2697			
	zw. Tieren	5	1256	251,2	2,17	> 0,05
	zw. Stufen	2	283	141,5	1,22	> 0,05
	Rest	10	1158	115,8		
X K-7,5.30'	gesamt	17	2239			
	zw. Tieren	5	1136	227,2	2,56	> 0,05
	zw. Stufen	2	218	109,0	1,23	> 0,05
	Rest	10	885	88,5		
XI K-15-37,5'	gesamt	17	5891			
	zw. Tieren	5	3071	614,2	7,32	< 0,01
	zw. Stufen	2	1982	991,0	11,82	< 0,01
	Rest	10	838	83,8		
XII K-22,5-45'	gesamt	17	4112			
	zw. Tieren	5	1839	367,8	7,45	< 0,01
	zw. Stufen	2	1780	890,0	18,05	< 0,001
	Rest	10	493	49,3		

Tabelle V (Fortsetzung)

Versuchsreihe: Beobachtungszeiten (min)	Varianzkomponente	FG	SAQ	MAQ	F_{emp}	P
		Farbstoffhyaluronidasequaddeln				
VII K-7,5-30'	gesamt	17	12849			
	zw. Tieren	5	2978	595,6	1,03	> 0,05
	zw. Stufen	2	4092	1046,0	1,81	> 0,05
	Rest	10	5779	577,9		
VIII K-15-37,5'	gesamt	17	14695			
	zw. Tieren	5	9830	1966,0	9,27	< 0,01
	zw. Stufen	2	2744	1372,0	6,48	< 0,05
	Rest	10	2121	212,1		
IX K-22,5-45'	gesamt	17	6483			
	zw. Tieren	5	1209	241,8	0,62	> 0,05
	zw. Stufen	2	1408	704,0	1,82	> 0,05
	Rest	10	3866	386,6		
X K-7,5-30'	gesamt	17	12183			
	zw. Tieren	5	1883	376,6	1,11	> 0,05
	zw. Stufen	2	6894	3447,0	10,14	< 0,01
	Rest	10	3406	340,6		
XI K-15-37,5'	gesamt	17	7541			
	zw. Tieren	5	7441	1488,2	51,80	< 0,001
	zw. Stufen	2	387	193,5	6,74	< 0,05
	Rest	10	287	28,7		
XII K-22,5-45'	gesamt	17	22405			
	zw. Tieren	5	2083	416,6	0,03	> 0,05
	zw. Stufen	2	6701	3350,5	2,46	> 0,05
	Rest	10	13621	1362,1		

Zusammenfassung

Einmalige Ergotaminapplikationen wirken auf den Verlauf der Hyaluronidasehemmung je nach Zeitpunkt der Verabreichung verschiedenartig :

Bei Injektion nach Beginn der regelmäßigen Adrenalinapplikationen vermag das Ergotamin die Aktivität über einen begrenzten Zeitaum hin zu reduzieren. Im Falle der Ergotamininjektion 2o min vor Beginn der Adrenalinapplikationen scheinen Ergotamin und Adrenalin in den zu Grunde liegenden Versuchen bezüglich der Veränderung der Quaddelgrößen über einen Zeitraum von 45 min ihre Wirkungen gegenseitig aufzuheben; es sind für diesen Fall Veränderungen unwahrscheinlich. Die Dauer, bis eine Wirkung des applizierten Ergotamins zu beobachten ist, hängt wahrscheinlich wesentlich davon ab, ob die Injektion vor oder nach einer Adrenalininfusion erfolgt. Genauere Feststellungen darüber bleiben eingehenderen Untersuchungen vorbehalten.

DISKUSSION UND ZUSAMMENFASSUNG

VOGEL und Mitarbeiter glaubten im Gegensatz zu den Untersuchungen von MATHIES und Mitarbeitern festgestellt zu haben, daß Ergotamin nicht in der Lage sei, die hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalins aufzuheben. Abgesehen von dem unterschiedlichen Versuchsmodell des Hyaluronidase-Ödems der Rattenpfote gegenüber dem von MATHIES und Mitarbeiter angewandten Farbstoff-Hyaluronidase-Spreading-Test arbeiteten VOGEL (12) und Mitarbeiter mit 1/4-sündlichen subcutanen Adrenalin-Applikationen gegenüber einer einmaligen intravenösen Adrenalin-Injektion. Nach Untersuchungen von TSACHIOTIS (13), die eingangs ausführlicher erwähnt wurden, ist dieser Adrenalin-Applikationsmodus als Versuchsanlage als geeignet zu bezeichnen. VOGEL und Mitarbeiter applizierten Ergotamin 1o Minuten nach der 1. Adrenalin-Applikation. Es bestand eine berechtigte Annahme dafür, daß der Zeitpunkt der Ergotamingabe als ungünstig bezeichnet werden muß, da das Intervall bis zum Eintritt der Ergotamin-Wirkung nicht berücksichtigt wurde. In der vorliegenden Arbeit wurden deshalb Untersuchungen mit unterschiedlichen Applikationszeiten des Ergotamin vorgenommen. Die Untersuchungen ergaben, daß eine Ergotamin-Injektion 1o Minuten nach der 1. Adrenalin-Applikation den hyaluronidasehemmenden Effekt erst 5o Minuten nach Versuchsbeginn, also erst nach der 3. Adrenalin-Applikation signifikant zu reduzieren beginnt. Wenn man das Ergotamin 2o Minuten vor der ersten Adrenalingabe appliziert, wird die Reduktion bereits nach der 1. Adrenalin-Applikation deutlich und ist im

weiteren Kurvenverlauf noch ausgeprägter feststellbar. Bei einer Ergotamin-Applikation 3o Minuten vor der 1. Adrenalingabe ist die Aufhebung des hyaluronidasehemmenden Effektes des Adrenalins bei Versuchsbeginn nahezu vollständig und läßt 22,5 Minuten nach der 1. Adrenalin-Applikation bereits wieder nach. Mit diesen Versuchsergebnissen ist bewiesen, daß die Versuchsanordnung von VOGEL und Mitarbeitern zum Nachweis der Aufhebung des hyaluronidasehemmenden Effektes des Adrenalins ungeeignet war, da die zeitgerechtere Wahl der Ergotamin-Applikation nicht berücksichtigt wurde. MATHIES (8), GLÜCK, POULANTZAS und SCHMIDT haben dagegen zeigen können, daß der hyaluronidasehemmende Effekt einer einmaligen Adrenalin-Applikation durch zeitgerechte Ergotamingabe voll aufgehoben werden kann. Bei der langen Versuchsdauer mehrfacher Adrenalin-Applikationen erscheint eine vollständige Aufhebung des hyaluronidasehemmenden Effektes über den ganzen Versuchsverlauf durch Ergotamin wegen seiner relativ kurzen Wirkungsdauer. Die günstigsten Ergebnisse wurden jedoch erzielt, wenn Ergotamin 2o Minuten vor der 1. Adrenalin-Applikation gegeben wurde.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Mathies, H. u. A. Jankowski. Wschr. 35, 1676 (1957)
2. Mathies, H. : Arzneimittelforsch. 8, 233 (1958)
3. Mathies, H., I. Biechele u. M. Hartmann: Ärztl. Forsch. XIV, I/16a (196o)
4. Mathies, H. : Zschr. ges. exp. Med. 131, 118 (1959)
5. Domenjoz R. : Arch. exp. Path. Pharmakol. 225, 14 (1955)
6. Sayers, G. u. M. Sayers : Endocrinology 4o, 256 (1947)
7. Mathies, H. : Zschr. Rheumaforsch. 18, 2o5 (1959)
8. Mathies, H., A. Glück, J. Poulantzas u. D. Schmidt: med. Exp. 1, 64 (1959)
9. Mathies, H. : Arch. int. pharmacodyn. CXXIII, 334 (196o)
1o. Mathies, H. u. G. Schlierf : Med. Exp. 2, 334 (196o)
11. Malorny, G. : Deutsch. med. J. 4, 1 (1955)
12. Vogel, G., H. Übel u. M.-L. Marek : Zschr. ges. exp. Med. 134, 1 (196o)
13. Tsachiotis, P. : in Vorbereitung
14. Madinaveitia, J. : Biochemie J. 32, 18o6 (1938)

Herrn Professor Dr. W. SEITZ danke ich für die Überlassung des Themas, Herrn Professor Dr. H. MATTHES für sein Entgegenkommen bei der Durchführung und Gestaltung der Arbeit und Herrn W. J. Ziegler, Zürich, für die statistische Auswertung der Versuche.

LEBENSLAUF

Am 17.4.1938 wurde ich als 2. Kind des Facharztes für Gynäkologie und Geburtshilfe Dr. med. Hans Kennel und seiner Ehefrau Dr. med. Viktoria Kennel geb. Tenewa, in Kaiserslautern geboren. Ich besuchte die Volksschule in Offenbach am Glan und das staatliche altsprachliche Gymnasium in Kaiserslautern, wo ich 1957 die Reifeprüfung ablegte. Das Studium der Medizin begann ich im Sommer-Semester 1957 an der Universität München. Nach der ärztlichen Vorprüfung studierte ich zwei Semester an der Universität Hamburg, um dann die restlichen klinischen Semester wiederum in München zu hören. Dort bestand ich im Februar 1963 das ärztliche Staatsexamen. In der anschließenden zweijährigen Medizinalassistentenzeit war ich an Krankenhäusern in München, Penzberg/Obb. und Frankfurt tätig. Meine Bestallung als Arzt erhielt ich 1965. Von Januar bis Dezember 1966 leistete ich meinen verkürzten Grundwehrdienst bei der Bundeswehr als Truppenarzt. Anschließend setzte ich meine Facharztausbildung an der Neurologischen und Psychiatrischen Klinik der Universität Frankfurt fort. Meinen Antrag auf Facharzt-Anerkennung habe ich bei der Bezirksärztekammer Frankfurt eingereicht. Gegenwärtig stehe ich in psychotherapeutischer Ausbildung am Sigmund Freud-Institut in Frankfurt, wo ich als wissenschaftlicher Angestellter tätig bin.